

Spektrum Ketahanan Galur Haploid Ganda Turunan IR64 dan *Oryza rufipogon* yang mengandung QTL Ketahanan terhadap Penyakit Blas (*Pir*)

Dwinita W. Utami¹, A. Dinar Ambarwati¹, Aniversari Apriana¹, Atmitri Sisharmini¹, Ida Hanarida¹,
Didier Tharreau², dan Santosa³

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²UMR BGPI CIRAD, Montpellier Cedex, Perancis

³Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Jl. Raya 9, Sukamandi

ABSTRACT

Resistance Spectrum of Double Haploid Lines Derived from IR64 and Wild Rice Species, *Oryza rufipogon* Contained the Blast Resistance QTL (*Pir*). Dwinita W. Utami, A. Dinar Ambarwati, Aniversari Apriana, Atmitri Sisharmini, Ida Hanarida, Didier Tharreau, and Santosa.

This study was initiated to determine the spectrum resistance of the candidate durable blast resistance variety contained the QTL (*quantitative trait locus*), *Pir1* and 2. This QTL was mapped on chromosome 2 detected using the advanced backcross population (BC₅) from the wild rice species *Oryza rufipogon* to IR64. *Pir* (1 and 2) also established on double haploid (DH) population derived from the selected lines of BC₂F₃ population, progenies from the same parents. The DH lines were developed to speed up the fixation process of the recessive alleles in the selected lines. Near isogenic lines with different blast resistance genes and combination were used in this study comparing to the DH population on their resistance spectrum using the known *avr* gene isolates both on green house and field screening. The determination of the resistance spectrum will useful on the prediction of durability of blast resistance gene in DH population. The results of spectrum resistance test in green house and field showed that *Pir1* and *Pir2* segregated on 1 : 1 proportion related with specific respond to blast *avr* gene PH14 and CM28 resistance. *Pir1* was identic to *Pi33* or *Pi25* and *Pir2* to *Pitq5* on spectrum resistance.

Key words: Double haploid lines, IR64, *Oryza rufipogon*.

PENDAHULUAN

Salah satu faktor menyebabkan penurunan produksi padi adalah adanya cekaman biotik yang disebabkan oleh penyakit blas. Penyakit ini disebabkan oleh cendawan patogen *Pyricularia grisea*, Sacc (*Pyricularia oryzae* Cavara (Rosman *et al.* 1990). Cendawan patogen ini mempunyai perkembangan seluler dan morfologi yang sangat adaptif pada tanaman padi yang diinfeksi (Dean *et al.* 1994). Oleh karenanya penyakit blas yang pada awalnya merupakan penyakit penting hanya pada padi gogo, dalam perkembangan

pada tahun-tahun terakhir ini juga telah menyerang padi sawah (Orbach *et al.* 2000). Sekarang, penyakit blas dinyatakan sebagai salah satu penyakit penting pada padi, baik padi sawah ataupun padi gogo. Tingkat kehilangan hasil akibat serangan penyakit blas di daerah endemik mencapai 11-50% (Baker *et al.* 1997, Scardaci *et al.* 1997). Di samping menyerang padi, *P. oryzae* juga menyerang tanaman penting lain seperti sorgum dan gandum (Milgroom 1993). Patogen blas juga mempunyai keragaman genetik yang tinggi (George *et al.* 1998, Ahn *et al.* 2000). Ras *P. grisea* dapat berubah virulensinya dalam waktu yang relatif singkat, bergantung pada tanaman inang dan lingkungannya. Dalam perkembangannya di lapang, *P. grisea* dapat membentuk ras baru dengan virulensi yang lebih tinggi dari asalnya, sehingga dapat mematahkan ketahanan varietas tahan dalam waktu yang relatif cepat (Ou 1985, Valent dan Chumley 1991, Leung *et al.* 1994). Oleh karena itu, penelitian tentang penyakit blas, baik mengenai patogennya maupun tanaman padi sebagai inangnya senantiasa diperlukan, sebagai upaya untuk membentuk galur padi tahan penyakit blas yang mampu bertahan lama (*durable*) dalam menghadapi keragaman populasi blas yang dinamis.

Salah satu penelitian yang telah dilakukan adalah perakitan galur tahan penyakit blas menggunakan sumber gen dari salah satu spesies padi liar *Oryza rufipogon* (No. IRGC#105491) (Utami *et al.* 2006). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan, berdasarkan analisis molekuler pada populasi silang ganda (BC₂F₃) turunan IR64 dan *O. rufipogon* terdapat QTL (*quantitative trait locus*) untuk sifat ketahanan terhadap penyakit blas, yang ditandai dengan nama *Pir* yang berada di kromosom 2 (Utami *et al.* 2005). Dalam perkembangan selanjutnya diketahui bahwa QTL tersebut terdiri dari 2 gen, yaitu *Pir4* dan *Pir7*. Untuk mempercepat proses fiksasi genom IR64, telah dibentuk populasi haploid ganda dari beberapa genotipe terseleksi dari populasi BC₂F₃ tersebut di atas sebagai kandidat galur tahan penyakit blas yang bersifat *durable*.

Penelitian perakitan galur tahan penyakit blas sangat memerlukan data dukung isolat *P. grisea* itu sendiri. Hal ini karena interaksi antara gen ketahanan pada tanaman padi dengan gen virulensi pada *P. grisea* merupakan faktor yang selalu mendasar dalam perakitan galur tahan blas. Pada saat ini, di Indonesia terdapat lebih dari 20 ras cendawan *P. grisea* (Amir dan Edwina 1988). Beberapa di antara ras *P. grisea* tersebut telah diketahui gen *avr*-nya beserta spektrum virulensinya pada beberapa tanaman isogenik yang mengandung gen ketahanan *Pi* yang berbeda (Santosa *et al.* 2006). Isolat-isolat yang representatif diperlukan untuk mengevaluasi galur baru hasil perakitan dengan teknik kultur anter dari tetua IR64 dan *O. rufipogon*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spektrum ketahanan galur haploid ganda turunan dari IR64 dan *O. rufipogon* di rumah kaca dan lapang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian spektrum ketahanan galur haploid ganda turunan IR64 dan spesies padi liar, *O. rufipogon* ini menggunakan 100 nomor populasi haploid ganda yang membawa QTL *Pir* (4 dan 7) dengan urutan Bio1 sampai dengan Bio43 adalah galur haploid ganda yang membawa *Pir7*, Bio44 sampai dengan Bio54 adalah galur haploid ganda yang membawa *Pir4*, dan Bio55 sampai dengan Bio100 adalah galur haploid ganda yang membawa kedua *Pir* (*Pir4* + 7). Beberapa tanaman kontrol yang digunakan terdiri dari tetua 1 (IR64), tetua 2 (*O. rufipogon*); galur pembanding, yaitu galur *monogenic lines* untuk gen ketahanan terhadap blas, yaitu varietas Teqing (*Pitq*), varietas BL1, dan varietas BL8 (*Pib*), berdasarkan peta molekulernya, *Pitq* dan *Pib* terdapat pada posisi yang berdekatan dengan *Pir*; galur isogenik, yang mempunyai *genetic background* padi subspecies Indica, yaitu C101LAC (*Pi1* + *Pi33*) dan IR1529 (*Pi33*), kedua jenis isogenik ini adalah galur yang memiliki spektrum ketahanan yang luas berdasarkan pengujian sebelumnya (Tharreau, tidak dipublikasi).

Untuk menganalisis respon spektrum ketahanan pada tanaman diperlukan isolat blas yang sudah teridentifikasi gen *avr*-nya. Isolat blas yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 isolat yang telah terdeteksi tipe *mating*-nya dan alel *avr* gennya dari gen *avr ACE1* (Tabel 1).

Penelitian dilakukan di rumah kaca dan di lapang. Pengujian populasi haploid ganda di rumah kaca dilakukan di Montpellier, CIRAD, Perancis, pada bulan Juni sampai dengan Agustus 2006. Pengujian dilakukan sesuai dengan Berruyer *et al.* (2003). Setiap varietas/galur padi ditanam dalam satu pot plastik persegi panjang dengan ukuran 20 cm x 10 cm x 10 cm, 10 tanaman/pot secara gogo dengan pemupukan 5 g urea, 1,3 g TSP, dan 1,2 g KCl setiap 10 kg tanah kering. Setiap nomor ditanam 10 tanaman dalam baris sebagai ulangan. Masing-masing isolat *P. grisea* diperbanyak pada media kentang dekstroase agar (PDA) pada cawan petri selama 7 hari. Biakan murni selanjutnya dipindahkan ke media *oat meal agar* selama 12 hari. Pada hari ke-10 setelah pemindahan koloni cendawan digosok dengan kuas gambar nomor 10 dengan menambahkan air steril yang diberi 0,01 g streptomisin/l. Biakan kemudian disimpan dalam inkubator bercahaya lampu neon 20 watt selama 48 jam. Pada hari ke-12 biakan digosok ulang dengan menggunakan kuas gambar dan menambahkan air steril yang mengandung Tween 20, 0,02% untuk mendapatkan suspensi spora. Kerapatan spora yang digunakan sebesar 2×10^5 spora/ml. Inokulasi dilakukan dengan cara menyemprotkan pada tanaman berumur 18-21 hari atau stadia 4-5 daun. Tanaman yang telah diinokulasi diinkubasi selama 2 x 24 jam dalam ruang lembab, kemudian dipindahkan ke rumah kaca. Pemeliharaan kelembaban selama di rumah kaca dilakukan dengan pengembunan. Pengamatan gejala penyakit untuk evaluasi ketahanan dilakukan mulai hari ke-7 sampai setelah inokulasi dengan menggunakan standar evaluasi IRRI (1996).

Tabel 1. Sepuluh isolat *P. grisea* yang digunakan sebagai sumber inokulum.

Ras	Inang asal	Lokasi asal	Tahun	Tipe mating	Gen <i>avr ACE1</i>
001	Gilirang	Kuningan	2003	1-2	PH14 (vir2)
003	C22	Subang	2003	1-2	PH14 (vir2)
031	C22	Subang	2003	1-2	PH14 (vir2)
033	Cirata	Lampung	2004	1-2	PH14 (vir2)
101	Maro	Kuningan	2003	1-2	GUY11 (avir)
ID4	IRAT216	Sukarami	1990	-	-
141	IR70215-2-CPA-2-1-B-1-2	Sumatera Selatan	2005	1-2	CM28 (vir1)
ID7	HB1-4	Sukarami	1990	-	-
ID8	IRAT90	Sukarami	1991	-	-
ID9	IRAT194	Sukarami	1991	-	-

Pengujian di lapang dilakukan di Jasinga, Jawa Barat, Indonesia, mulai bulan September sampai dengan Januari 2006. Sebelum dilakukan penanaman tanaman uji, dilakukan determinasi isolat blas yang ditemukan di lokasi ini ke dalam kelompok ras. Determinasi ras untuk isolat blas dari lapang perlu dilakukan agar data tingkat ketahanan di rumah kaca dan lapang dapat dibandingkan. Rancangan pengujian di lapang dilakukan dengan rancangan acak kelompok (RBD). Setiap nomor galur ditanam pada satu plot dengan luasan 80 cm x 1,6 m. Pengulangan dilakukan tiga kali, sehingga terdapat tiga blok pertanaman dengan masing-masing blok memiliki jumlah plot yang sama. Jarak tanam yang digunakan untuk masing-masing plot adalah 20 cm x 20 cm dengan tiga butir benih padi per lubang. Sebagai tanaman pinggiran, ditanam varietas Kencana Bali yang merupakan tanaman rentan dan ditanam 2 jarak mengelilingi setiap blok. Tanaman Kencana Bali ditanam terlebih dahulu 2 minggu sebelum tanaman uji ditanam. Setiap 10 nomor tanaman uji disela oleh Kencana Bali dengan luas plot yang sama, yaitu 1 x 2 m². Penanaman tanaman uji pada blok I dilakukan urut sesuai nomor sampel. Sedangkan penanaman pada blok II dan III dilakukan secara acak. Pengamatan penyakit di lapang berdasarkan skor dan luasan bercak sesuai dengan standar evaluasi IRRI (1996) (Tabel 2).

Selanjutnya data skoring tingkat ketahanan yang diperoleh dari hasil pengujian di rumah kaca dan di lapang dikonversi sebagai data kualitatif menjadi data biner (1 = T dan 0 = MT/R). Kategori MT disamakan dengan kategori R, karena pada umumnya tanaman yang termasuk dalam kelompok MT cenderung bersifat R apabila ditanam di lokasi endemik (Amir, tidak dipublikasi). Data biner selanjutnya dianalisis dengan program NTSYSpC versi 2.02 untuk menentukan keragaman dan pengelompokan berdasarkan ketahanan galur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Spektrum Ketahanan Galur Haploid Ganda di Rumah Kaca

QTL *Pir* (4 dan 7), dipetakan di kromosom 2 pada posisi genetik yang berdekatan dengan gen ketahanan blas yang telah teridentifikasi sebelumnya, yaitu *Pib* dan *Pitq*. Dengan pengujian spektrum resistensi ini dapat menguji kesamaan spektrum ketahanan antara QTL *Pir* dengan *Pib* atau *Pitq5*. Pengujian dilakukan dengan membandingkan spektrum resistensi galur haploid ganda turunan *O. rufipogon* dan IR64 yang membawa QTL *Pir* dengan galur isogenik BL1, BL8 (mengandung gen *Pib*), dan galur isogenik Teqing (mengandung gen *Pitq5*).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa QTL *Pir4* dan *Pir7* bersegregasi 1 : 1 pada 100 nomor galur haploid ganda. Galur haploid ganda (Bio2, 3, 5, ... 43, kecuali bio14) yang mengandung *Pir4* bersifat tahan sampai dengan medium tahan terhadap isolat *P. grisea* yang mempunyai *avr* CM28, dan menunjukkan reaksi yang sama dengan tetua *O. rufipogon* dan juga dengan varietas *Teqing* yang mempunyai gen ketahanan *Pitq5*. Hal ini mengindikasikan bahwa nomor haploid ganda tersebut mempunyai spektrum ketahanan yang sama dengan *Pitq5*. Sedangkan nomor galur haploid ganda lainnya (Bio1, 4, 45, 47, ... 98) yang mempunyai QTL *Pir7* bersifat tahan sampai dengan medium tahan terhadap isolat *P. grisea* yang mempunyai gen *avr* PH14 dan menunjukkan reaksi yang sama dengan IR64. Hal ini juga menunjukkan bahwa nomor-nomor galur haploid ganda yang terakhir ini mempunyai spektrum ketahanan yang sama dengan IR64. Adanya segregasi 1 : 1 berdasarkan spektrum ketahanan dari 100 nomor galur haploid ganda yang diuji seperti terlihat pada Gambar 1.

Gen virulensi PH14 telah diketahui merupakan isolat diferensial untuk gen ketahanan *Pi33* (Berruyer *et al.* 2003). Berdasarkan hasil di atas mengindikasikan bahwa *Pi33* bersegregasi di galur haploid ganda yang

Tabel 2. Skor skala penyakit blas daun dan ketahanan tanaman padi menurut standar evaluasi IRRI (1996).

Skor gejala	Kategori	Keterangan
0	T	Tidak ada gejala serangan
1	T	Terdapat bercak sebesar ujung jarum (LDT = 0,5%)
2	T	Bercak lebih besar dari ujung jarum (LDT = 1%)
3	T	Bercak keabu-abuan, berbentuk bundar dan agak lonjong, panjang 1-2 mm dengan tepi coklat (LDT = 2%)
4	MT	Bercak khas blas, panjang 1-2 mm, LDT < 5%
5	MT	Bercak khas blas, LDT 5-10%
6	R	Bercak khas blas, LDT 10-25%
7	R	Bercak khas blas, LDT 26-50%
8	R	Bercak khas blas, LDT 51-75%
9	R	Bercak khas blas, LDT 76-100%

T = tahan, MT = medium tahan, R = rentan, LDT = luas daun terserang.



Gambar 1. Hasil analisis pengelompokan berdasarkan uji spektrum ketahanan tanaman populasi haploid ganda dibandingkan dengan galur isogenik yang mengandung gen *Pitq* dan *Pib*.

mempunyai spektrum sama dengan IR64. Galur-galur tersebut adalah Bio47, Bio52, Bio60, Bio61, Bio62, Bio67, Bio69, Bio73, Bio74, Bio75, Bio76, Bio79, Bio81, Bio82, Bio83, Bio84, Bio85, Bio88, Bio89, Bio90, Bio91, Bio92, Bio93, Bio94, dan Bio97. Di samping itu, Sallaud *et al.* (2003) juga menyebutkan bahwa varietas IR64 juga mempunyai gen ketahanan *Pi25(t)*, sehingga hal ini juga mengindikasikan bahwa QTL *Pir* yang terdapat

pada beberapa nomor-nomor galur haploid ganda di atas identik dengan *Pi25(t)*. Namun demikian, perlu pengujian lebih lanjut melalui pembuatan *fine map* dari QTL ini.

Berdasarkan hasil pengujian di atas, diperoleh hasil bahwa terdapat galur haploid ganda yang mempunyai spektrum sama dengan IR64, yaitu mempunyai QTL *Pir7* dan galur haploid ganda lainnya yang mem-

punyai spektrum sama dengan *O. rufipogon*, mempunyai QTL *Pir4*. *Pir7* identik dengan *Pi33* atau *Pi25* dan bersifat peka terhadap isolat blas yang mempunyai gen *avr* CM28. Sedangkan *Pi4* identik dengan *Pitq5* dan bersifat peka terhadap isolat blas yang mempunyai gen *avr* PH14. Evaluasi selanjutnya dilakukan dengan menganalisis spektrum ketahanan *Pir7* dan *Pi4* yang terdapat secara terpisah atau tergabung dalam satu galur.

Spektrum ketahanan IR64 dan *O. rufipogon* menunjukkan bahwa keduanya bersifat peka secara berurutan terhadap isolat *P. grisea* dengan gen *avr* CM28 dan PH14. Sebagian besar nomor tanaman yang diuji (71 dari 117 nomor) yang mempunyai QTL *Pir1*, bersifat peka terhadap isolat *P. grisea* dengan gen *avr* CM28 tetapi tahan terhadap isolat dengan gen *avr* PH14. Kelompok galur haploid ganda ini menunjukkan spektrum ketahanan yang sama dengan IR64. Sedangkan galur haploid ganda yang memiliki spektrum ketahanan sama dengan *O. rufipogon* bersifat peka terhadap gen *avr* PH14 tetapi tahan terhadap isolat dengan gen *avr* CM28. Beberapa galur haploid ganda yang mempunyai kedua gen *Pir7* dan *Pir4* menunjukkan respon yang mirip dengan galur yang membawa *Pir7*. Secara proporsi menunjukkan bahwa hampir semua nomor hanya tahan terhadap PH14 (45 dari 46 nomor). Hal ini menunjukkan bahwa *Pir4* bersifat resesif sedangkan *Pir7* bersifat dominan. Hasil di atas terlihat pada Gambar 2.

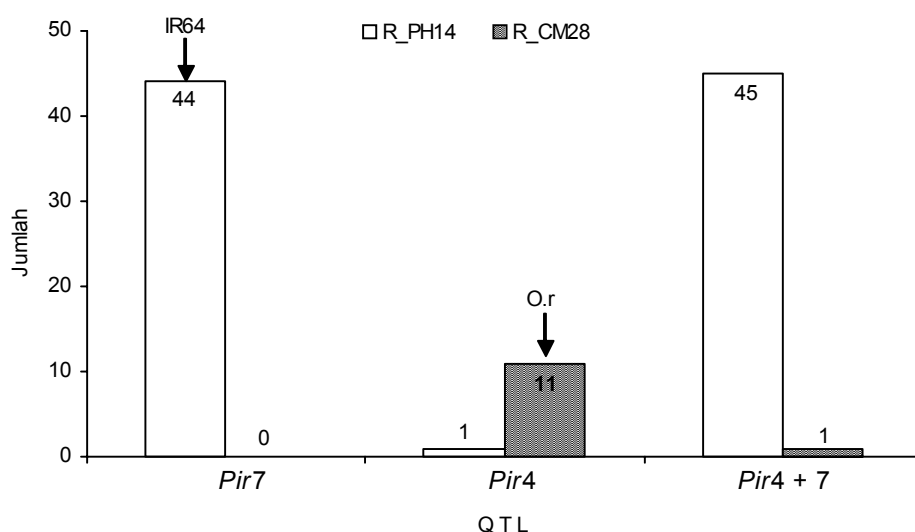
Galur haploid ganda yang membawa *Pir7* mendapatkan faktor genetik sifat ketahanan dari tetua IR64. Demikian sebaliknya galur haploid ganda yang membawa *Pir4* mendapat faktor genetik sifat ketahanan

dari tetua *O. rufipogon*. Namun demikian, terdapat satu galur haploid ganda, yaitu Bio46 (*Pir4*) yang bersifat tahan terhadap kesepuluh isolat *P. grisea* yang diinokulasikannya (baik CM28 ataupun PH14). Galur ini mempunyai spektrum ketahanan yang identik dengan galur multiline CT13432-3R yang mempunyai 3 gen ketahanan sekaligus *Pi1* + *Pi2* + *Pi33*.

Evaluasi Ketahanan Galur Haploid Ganda Padi di Lapang

Pengujian tingkat ketahanan galur haploid ganda di lapang diperlukan untuk melengkapi data spektrum resistensi yang diperoleh dari pengujian di rumah kaca. Spektrum resistensi tidak dapat ditentukan dengan pengujian di lapang, karena sumber inokulumnya bersifat alami, tidak diinokulasikan, dan tidak diketahui gen *avr* dari isolat *P. grisea* di lapang. Namun demikian, berdasarkan hasil determinasi isolat blas yang ditemukan di lapang, diketahui bahwa isolat blas yang terdapat di Jasinga adalah Ras 001 (*PH14*) dan Ras 101 (*GUY11*). Ras 101 adalah salah satu isolat blas yang membawa alel avirulensi *GUY11*. Kedua ras ini juga termasuk sebagai ras uji pada pengujian di rumah kaca. Genotipe yang digunakan pada pengujian di lapang adalah (1) kedua tetua, IR64 (*Pi25/Pir1*), dan *O. rufipogon* (*Pir2*); (2) varietas Teqing (*Pitq5*); (3) galur isogenik C101LAC (*Pi1* + *Pi33*) dan IR1529 (*Pi33*). Adapun hasil pengujian di lapang untuk populasi galur haploid seperti pada Gambar 3.

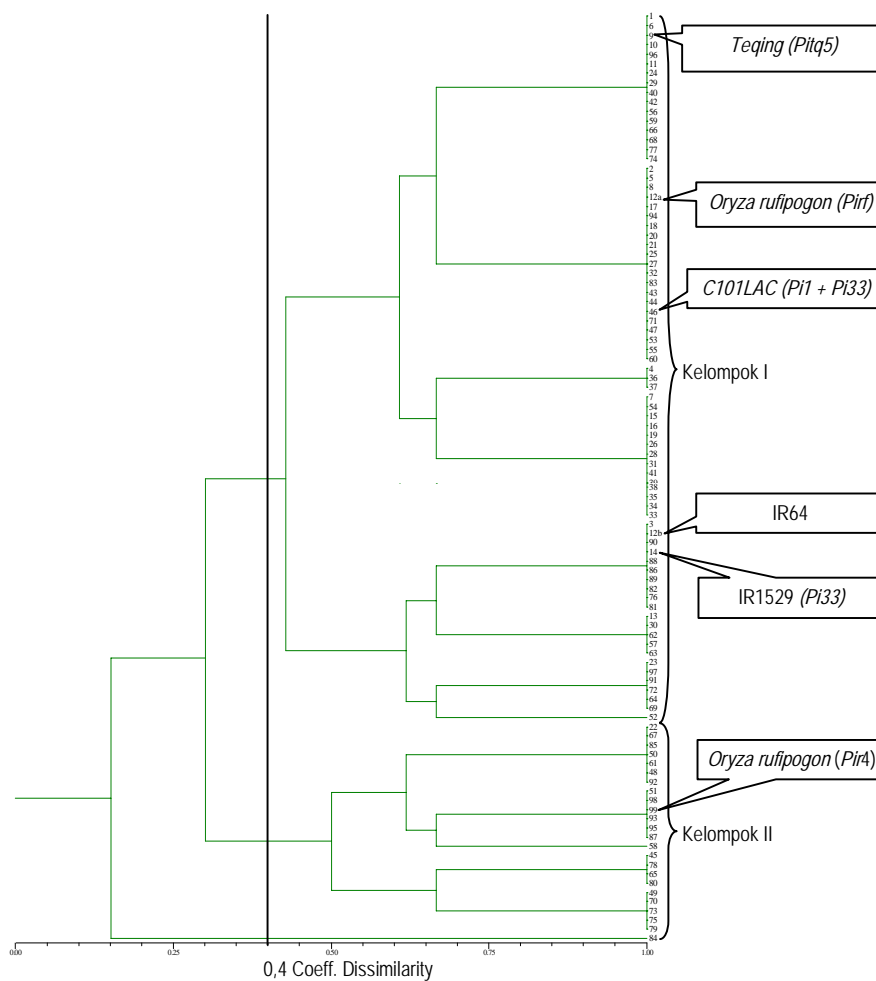
Berdasarkan reaksi ketahanan masing-masing galur haploid ganda dan juga lima macam tanaman kontrol di lapang, maka dapat dilakukan pengelompokan seperti pada Gambar 4.



Gambar 2. Respon galur-galur haploid ganda yang memiliki gen ketahanan *Pir1*, *Pir2*, dan *Pir1* + 2 terhadap isolat blas yang mempunyai gen *avr* PH14 dan CM28.



Gambar 3. Respon tanaman tahan (T) dan rentan (R) terhadap patogen. Blas daun (*leaf blast* O) dan blas leher (*neck blast* ←) di Jasinga, Jawa Barat. Salah satu nomor yang tahan adalah Bio46.



Gambar 4. Hasil analisis pengelompokan berdasarkan reaksi ketahanan galur haploid ganda dan lima macam tanaman kontrol di lapang menggunakan program NTSYS 2.02.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada tingkat ketidaksamaan (*dissimilarity level*) 40% hampir sebagian besar galur haploid ganda (74 dari 98 nomor) mengelompok dalam satu kelompok besar. Sedangkan sebagian kecil galur haploid ganda (24 dari 98 nomor) pada kelompok yang lain. Kelompok pertama, adalah kelompok sebagian besar galur haploid ganda yang memiliki reaksi ketahanan yang mirip dengan tetua pemulih IR64 yang membawa gen *Pir7*, varietas *Teqing* yang mengandung gen ketahanan *Pitq*, galur isogenik C101LAC yang membawa multi gen *Pil* + *Pi33*, dan galur IR1529 yang membawa gen ketahanan *Pi33*. Sedangkan kelompok kedua adalah sebagian kecil galur haploid ganda yang memiliki reaksi ketahanan yang mirip dengan tetua donor *O. rufipogon* yang membawa gen *Pir4*. Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan proporsi segregasi antara hasil di rumah kaca dengan di lapang. Proporsi segregasi spektrum ketahanan populasi haploid ganda di lapang 3 : 1. Adanya perbedaan ini disebabkan karena ras yang terdapat di Jasinga adalah hanya ras-ras blas yang membawa gen *avr PH14* dan *GUY11* dan tidak ditemukan ras blas yang membawa gen *avr CM28*, sehingga gen *Pir4* yang responsif terhadap CM28 tidak terinduksi. Di samping itu juga berdasarkan pengujian spektrum ketahanan di rumah kaca, *Pir7* bersifat dominan dan *Pir4* resesif. Oleh karena itu, sebagian besar galur haploid ganda yang diuji mengelompok dalam 1 kelompok.

KESIMPULAN

Pengujian spektrum ketahanan populasi haploid ganda berdasarkan uji di rumah kaca menunjukkan segregasi 1 : 1 untuk *Pir4* dan *Pir7* terhadap isolat *P. grisea* yang mempunyai gen *avr PH14*, GUY11, dan CM28. Sedangkan hasil pengujian di lapang, sebagian besar galur haploid ganda menunjukkan spektrum ketahanan *Pir7*. Hal ini berkaitan dengan populasi patogen blas di Jasinga yang didominasi oleh isolat-isolat blas yang membawa gen *avr PH14*. Bio46 dapat sebagai kandidat galur harapan tahan blas yang bersifat *durable*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, S.N., Y.K. Kim, H.C. Hong, S.S. Han, S.J. Kwon, H.C. Choi, H.P. Moon, and S.R. McCouch. 2000. Molecular mapping of a new gene for resistance to rice blast (*Pyricularia grisea* Sacc.). J. Eup. 116:17-22.
- Amir, M. dan R. Edwina. 1988. Regionalisasi varietas padi untuk pengendalian penyakit blas (*Pyricularia oryzae*, Cav.) di Indonesia. Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balittan, Bogor.
- Baker, B., P. Zambryski, B. Staskawicz, and S.P. Dinesh-Kumar. 1997. Signaling in plant-microbe interactions. J. Sci. 276:726-733.
- Berruyer, R., H. Adreit, J. Milazzo, S. Gaillard, A. Berger, W. Dioh, M.H. Lebrun, and D. Tharreau. 2003. Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. Theor. App. Genet. 107(6):1139-1147.
- Dean, R.A., Y.H. Lee, T.K. Mitchell, and D.S. Whitehead. 1994. Signaling system and gene expression regulating appressorium formation in *Magnaporthe grisea*. Rice Blast Disease. Philippines. CAB. International. IRRI. Philippines.
- George, M.L.C., R.J. Nelson, R.S. Zeigler, and H. Leung. 1998. Rapid genetic analysis of *Magnaporthe grisea* with PCR using endogenous repetitive DNA sequences. Phytopathology 88:223-229.
- International Rice Research Institute. 1996. Standard evaluation system for rice. 4th Edition. IRRI. Philippines.
- Leung, H. and Z. Shi. 1994. Genetic regulation of sporulation in the rice blast fungus. Rice Blast Disease 3:35-38.
- Milgroom, M.J. 1993. Analysis of population structure in fungal plant pathogens. Based on Book of A Conference on Sorghum and Millet Diseases, Bellagio, Italy.
- Ou, S.H. 1985. Rice diseases. 2nd Edition. England. Commonwealth Mycology Institut, Surrey.
- Orbach, M.J., L. Farrall, J.A. Sweigard, F.G. Chumley, and B. Valent. 2000. A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene *Pi-ta*. The Plant Cell 12:2019-2032.
- Rosman, A.Y., R.J. Howard, and B. Valent. 1990. *Pyricularia grisea*, The correct name for the rice blast disease fungus. J. Mycologi 82:509-512.
- Sallaud, C., M. Lorieux, E. Roumen, D. Tharreau, R. Berruyer, P. Svestasrani, O. Garsmeur, A. Ghesquiere, and J-L. Notteghem. 2003. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. Theor. App. Genet. 106:794-803.
- Santosa. 2006. Training report on characterization of Indonesia blast pathogen population and evaluation resistance spectrum of new lines *Pir2-1(t)* and *Pir2-3(t)*. ICABIOGRAD-CIRAD Research Collaboration Project.
- Scardaci, S.C., R.K. Webster, C.A. Greer, J.E. Hill, J.F. William, D.M. Mutters, R.G. Brandon, K.S. McKenzie, and J.J. Oster. 1997. Rice blast: A new disease in California. J. Agr. Fact Sheet Ser. 1:2-5.
- Utami, D.W., S. Moeljopawiro, H. Aswidinnoor, A. Setiawan, and E. Guhardja. 2005. QTL analysis of blast (*Pyricularia grisea*, Sacc) resistance on interspecific population between IR64 and *O. rufipogon*, Sacc. Jurnal Bioteknologi Pertanian 10(1):41-48.

Utami, D.W., I. Hanarida, H. Aswidinnoor, and S. Moeljopawiro. 2006. Inheritance of blast resistance (*Pyricularia grisea* Sacc) on interspecific crossing between IR64 and *Oryza rufipogon*, Sacc. Hayati 13(3):107-112.

Valent, B. and F.G. Chumley. 1991. Molecular genetic analysis of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. Annu. Rev. Phytopathol. 29:443-467.
